



Trabajo Fin de Máster

Máster Oficial en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del
Crecimiento y el Desarrollo

VALORACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LOS FACTORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA INFERTILIDAD MASCULINA

Autora:

Alba Rodríguez Salvador DNI: 22758295W

Director(e/a)s:

Dra. María Isabel Tejada Minguez DNI: 15900402L

Dr. Fernando Andrade Lodeiro DNI: 78899252Y

Hospital Universitario de Cruces (HUC)

© 2018, Alba Rodríguez Salvador

Cantabria, 8 de Octubre de 2018



VALORACIÓN DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LOS FACTORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA INFERTILIDAD MASCULINA

Autora:

Alba Rodríguez Salvador. DNI: 22758295W

Director(e/a)s:

Dra. María Isabel Tejada Minguez. DNI: 15900402L

Dr. Fernando Andrade Lodeiro. DNI: 78899252Y

Línea investigación: Genética.

Centro: Hospital Universitario de Cruces (HUC).

La **Dra. María Isabel Tejada Minguez** y el **Dr. Fernando Andrade Lodeiro** como directores y responsables del Trabajo Fin de Máster "Valoración del diagnóstico clínico de los factores genéticos implicados en la infertilidad masculina",

CERTIFICAN que el citado trabajo ha sido desarrollado en el Hospital Universitario de Cruces (HUC) dentro del Máster: "Máster Oficial en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del Crecimiento y el Desarrollo" por Dña. **Alba Rodríguez Salvador**, por lo que

AUTORIZAN la presentación del citado trabajo final de Máster, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En Barakaldo, a 5 de octubre de 2018



Fdo. María Isabel Tejada Minguez
Lodeiro



Fdo. Dr. Fernando Andrade

Firma alumna:



ÍNDICE

1. RESUMEN / ABSTRACT	V-VI
2. INTRODUCCIÓN.....	VII
2.1. INFERTILIDAD/ ESTERILIDAD Y TIPOS	VII
2.2. FACTORES ETIOLÓGICOS	VII
2.3. SEMINOGRAMA ALTERADO.....	VII
2.3.1. Tipos de seminograma.....	IX
2.4. ANÁLISIS HORMONALES	XIII
2.4.1. Tirotropina (TSH)	XIII
2.4.2. Prolactina.....	XIII
2.4.3. Folitropina (FSH)	XIII
2.4.4. Inhibina-B (Inh-b-B)	XIV
2.4.5. Lutropina (LH)	XIV
2.4.6. Testosterona.....	XIV
2.5. ESTUDIOS GENÉTICOS ASISTENCIALES.....	XV
2.5.1. Alteraciones cromosómicas	XV
2.5.1.1. Anomalías numéricas o aneuploidías.....	XVI
2.5.1.2. Anomalías estructurales	XVI
2.5.2. Microdeleciones en el cromosoma Y.....	XVIII
2.5.3. Fibrosis quística	XX
2.6. OTRAS ANOMALÍAS GENÉTICAS.....	XXI
2.6.1. Genes del cromosoma Y.....	XXI
2.6.2. Mutaciones puntuales	XXI
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	XXIII
3.1. HIPÓTESIS	XXIII
3.2. OBJETIVOS.....	XXIII
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	XXIV
4.1. Búsqueda bibliográfica	XXIV
4.2. Característica de la muestra.....	XXIV
4.3. Estudios revisados.....	XXV
4.4. Elaboración de bases de datos.....	XXVI
5. RESULTADOS	XXVII
6. DISCUSIÓN	XXIV
7. CONCLUSIÓN.....	XLIV
8. LIMITACIONES	XLV
9. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	XLVI
10. BIBLIOGRAFÍA.....	XLVII

1. RESUMEN

La infertilidad es la incapacidad de una pareja sexualmente activa de concebir después un año de relaciones sexuales sin protección. Aproximadamente un 15% de las parejas presentan problemas de fertilidad y en la mitad de los casos, los parámetros anormales del semen apuntan a un factor asociado a la infertilidad masculina. Las causas de la infertilidad masculina son heterogéneas, pero más del 40% de los casos tienen una base genética. Sin embargo, en un 50% de los casos no se determinan causas conocidas.

La hipótesis del presente estudio es que las herramientas de diagnóstico empleadas en la actualidad son limitadas y es necesario definir mejor los estudios genéticos a realizar en la práctica clínica.

El objetivo principal es proporcionar las recomendaciones para el estudio genético en la evaluación de los trastornos de la infertilidad masculina por factor seminal. El objetivo secundario es analizar la práctica clínica rutinaria actual en cuanto a los estudios genéticos en el Hospital Universitario Cruces (HUC).

De los 60 individuos estudiados, 10 (16,67%) fueron diagnosticados de algún trastorno genético conocido. Las causas genéticas más frecuentes halladas fueron, en primer lugar, las anomalías cromosómicas (11,67%): numéricas (8,33%) y estructurales (3,33%). En segundo lugar, la fibrosis quística (3,33%) y, en tercer lugar, las microdeleciones del cromosoma Y (1,67%).

Los hallazgos demuestran que los protocolos genéticos asistenciales realizados en la actualidad son válidos y absolutamente necesarios para el diagnóstico genético de la infertilidad masculina por factor seminal, aunque quizás debiera replantearse algún otro estudio en casos concretos.

Palabras clave: infertilidad / masculino / genética / azoospermia / criptozoospermia / oligozoospermia / Síndrome de Klinefelter

1. ABSTRACT

Infertility is the inability of a sexually active partner to conceive after one year of unprotected sex. Approximately 15% of the couples present fertility problems and in half of the cases, the abnormal semen parameters point to a factor associated with male infertility. The causes of male infertility are heterogeneous, but more than 40% of cases have a genetic basis. However, more than 50% of cases don't have certain causes recognized.

The hypothesis of the present study is that the diagnostic tools currently used are limited and are necessary for genetic studies to be carried out in clinical practice.

The main objective of this study is to provide recommendations for the genetic study in the evaluation of male infertility disorders by seminal factor. The secondary objective is to analyze current routine clinical practice regarding genetic studies at the University Hospital of Cruces (H.U.C.).

Of the 60 individuals studied, 10 (16.67%) were diagnosed with a known genetic disorder. The most frequent genetic causes found were, first, chromosomal abnormalities (11.67%): numerical (8.33%) and structural (3.33%). Second, cystic fibrosis (3.33%) and, third, microdeletions of the Y chromosome (1.67%).

The findings presented by the genetic care protocols carried out at present are valid and necessary for the genetic diagnosis of male infertility by seminal factor, although perhaps some other study should be reconsidered in specific cases.

Keywords: infertility / male / genetics / azoospermia / cryptozoospermia / oligozoospermia / Klinefelter Syndrome

2. INTRODUCCIÓN

2.1. INFERTILIDAD/ ESTERILIDAD Y TIPOS

La infertilidad se define como la incapacidad de una pareja sexualmente activa de concebir después un año de relaciones sexuales sin protección (1), mientras que la esterilidad se define como la incapacidad de llevar adelante un embarazo.

En ambos casos, se distingue entre:

2.1.1. Infertilidad/esterilidad primaria:

Condición por la que una pareja nunca ha conseguido lograr un embarazo o llevarlo a término de manera natural (2).

2.1.2. Infertilidad/esterilidad secundaria:

Condición por la que una pareja, tras un primer embarazo, no consigue quedarse embarazada o llevarlo a término otra vez.

Por consenso internacional se decidió utilizar el término infertilidad en varones para ambos términos, por lo que será el término a utilizar en el presente trabajo.

Aproximadamente el 15% de las parejas en edad reproductiva presentan problemas de fertilidad. En el 50% de los casos, los parámetros anormales del semen apuntan a un factor asociado a la infertilidad masculina (3, 4), afectando alguna de estas condiciones aproximadamente al 7% de los hombres (5).

2.2. FACTORES ETIOLÓGICOS IMPLICADOS EN LA INFERTILIDAD MASCULINA

La infertilidad afecta al 10 a 15% de los hombres durante su edad reproductiva. Se ha descrito su naturaleza multifactorial, por lo que se reconoce como un grupo clínicamente heterogéneo en el que el diagnóstico puede variar ampliamente entre pacientes. Cualquier estudio realizado en varones en el marco reproductivo debe ir precedido por un estudio andrológico, que debe incluir al menos la historia clínica y el análisis de semen (4). Entre la gran variedad de factores que pueden influir en la fertilidad, la práctica clínica se centra en evaluar los factores etiológicos implicados en la infertilidad masculina (**Tabla 1**) (6), que son los factores adquiridos y genéticos.

Tabla 1. Lista de factores etiológicos implicados en la infertilidad masculina (6).

Factores adquiridos
Traumas
Varicocele
Criptorquidia
Torsión testicular
Enfermedades oncológicas
Daños en la vascularización de los testículos
Disfunción eréctil o disfunción eyaculatoria
Formas inflamatorias (orquitis, epididimitis)
Obstrucción, subobstrucción del tracto urogenital proximal y / o distal
Infecciones urogenitales recurrentes, prostatitis, prostatovesiculitis
Factores exógenos (medicamentos, fármacos citotóxicos, irradiación, calor, etc.)
Enfermedades sistémicas (cirrosis hepática, insuficiencia renal, etc.)
Hipogonadismo hipogonadotrófico adquirido o factores endocrinos
Factores congénitos
Ausencia congénita de conductos deferentes
Anomalías genéticas
Anomalías cromosómicas
Microdeleciones en el cromosoma Y
Fibrosis quística
Otras
Formas idiopáticas
Etiología desconocida (aproximadamente 50%)

Ante un caso de infertilidad masculina, el primer paso de la práctica clínica es valorar la existencia de factores adquiridos, como puede ser la disfunción sexual, los traumas, las enfermedades infecciosas, los factores hormonales, inmunológicos y anatómicos (malformaciones genitales internas o externas) (7). Entre los casos de infertilidad causada por infecciones, se puede destacar el efecto de la infección por el virus de la hepatitis B sobre la calidad de la esperma y el estado de estrés oxidativo del semen de varones con problemas de fertilidad (8). Recientemente se ha descrito que la infección seminal por el virus del papiloma humano (VPH) puede contribuir al riesgo de infertilidad masculina (9).

En cuanto a la infertilidad en individuos con enfermedades autoinmunes, se ha observado que los hombres con lupus eritematoso sistémico muestran una alta frecuencia de disfunción testicular de células de Sertoli (10). También se ha descrito la presencia de anticuerpos antiespermáticos como consecuencia de infecciones previas o enfermedades inflamatorias del testículo o epidídimo son capaces de alterar la barrera

hematotesticular (6), sin embargo estos casos son menos frecuentes y representan menos del 5% de infertilidad masculina.

La lesión testicular también puede causar daños irreparables en el tejido testicular lo cual conduce a la infertilidad (10). Así como la presencia de microorganismos y / o leucocitos en el semen líquido pueden afectar la motilidad de los espermatozoides y la capacidad de fertilización de los espermatozoides debido a la producción de radicales de oxígeno reactivos por leucocitos activados (6).

El varicocele es otra de las causas de infertilidad en varones. Consiste en una dilatación varicosa de las venas del cordón espermático y del escroto, una anomalía física presente en el 11.7% de los hombres con el análisis de semen normal y en el 25,4% de los hombres con semen anormal (3). Esta condición, compromete la calidad del ADN espermático. Se ha descrito que el mecanismo subyacente es el aumento del estrés oxidativo que puede causar daño al ADN nuclear y mitocondrial, lo que conduce a la modificación del material genético y compromete la estructura de la cromatina (11).

También se ha descrito la influencia de las enfermedades crónicas y el sobrepeso o la obesidad (7) como factores de riesgo en la infertilidad masculina.

2.3. SEMINOGRAMA ALTERADO

En la práctica clínica, al mismo tiempo que se valoran factores adquiridos se le realice al paciente un seminograma para valorar la calidad espermática, así como análisis complementarios bioquímicos y hormonales.

2.3.1. Tipos de seminograma

El seminograma es una prueba fundamental en el diagnóstico de la fertilidad masculina. Consiste en una descripción del eyaculado para evaluar la función del tracto reproductivo masculino. Los parámetros característicos incluyen volumen, pH, concentración, motilidad, vitalidad y morfología de los espermatozoides, así como la presencia de otras células en la muestra (2).

La **Tabla 2** contiene la clasificación de los resultados del seminograma en base al recuento, movilidad y morfología de los espermatozoides (2, 6). Es importante destacar que los valores de referencia del seminograma corresponden a población fértil, pero en ningún momento indican fertilidad o esterilidad, puesto que varones por debajo de esos valores pueden conseguir gestaciones.

Tabla 2. Clasificación de la calidad del semen patológico según la OMS (12).

Nomenclatura	Recuento	Movilidad	Morfología
Valor normal	> 39 millones	> 32%	Normal
Aspermia	-	-	-
Azoospermia	-	-	-
Azoospermia obstructiva (AO)	-	-	-
Azoospermia no obstructiva (ANO)	-	-	-
Criптоzoospermia	Bajo	Normal	Normal
Oligozoospermia severa	Muy Bajo (1-10 millones)	Normal	Normal
Oligozoospermia	Bajo (10-38 millones)	Normal	Normal
Astenozoospermia severa	Normal	Reducida o nula	Normal
Astenozoospermia	Normal	Reducida <32%	Normal
Asteno-teratozoospermia	Normal	Reducida <32%	Alterada (<4% normales)
Teratozoospermia	Normal	Normal	Alterada (<4% normales)
Oligo-asteno-teratozoospermia	Bajo	Reducida	Alterada

2.3.1.1. **Normozoospermia:** se denomina normozoospermicos a aquellos individuos en cuyo seminograma el recuento de espermatozoides resulta mayor de 39 millones, su movilidad es mayor al 32% y presentan morfología normal.

2.3.1.2. **Aspermia:** se define como la ausencia de eyaculación externa

2.3.1.3. **Azoospermia:** La ausencia de espermatozoides en la eyaculación.

2.3.1.4. **Azoospermia obstructiva (AO):** Ausencia de espermatozoides en la eyaculación debido a la oclusión del sistema ductal. La obstrucción epididimal es la causa más común de AO (3).

2.3.1.5. **Azoospermia no obstructiva (ANO):** ausencia de espermatozoides en la eyaculación (7). Es la causa más frecuente de espermatogénesis alterada (3).

2.3.1.6. **Criптоzoospermia:** se define como un recuento de espermatozoides bajo en el que es necesario concentrar los espermatozoides para poder realizar su recuento. Los espermatozoides parecen ausentes de la preparación fresca, pero son observados en un sedimento centrifugado (6).

2.3.1.7. **Oligozoospermia severa:** se refiere a un recuento de espermatozoides de 1-10 millones / eyaculado.

- 2.3.1.8. **Oligozoospermia:** se refiere a un recuento de espermatozoides de 10-38 millones / eyaculado. Baja concentración de espermatozoides en la eyaculación por debajo del límite de referencia inferior.
- 2.3.1.9. **Astenozoospermia severa:** movilidad baja o nula
- 2.3.1.10. **Astenozoospermia:** <32% espermatozoides progresivamente móviles.
- 2.3.1.11. **Astenoteratozoospermia:** reducido porcentaje de espermatozoides móviles y morfológicamente normales en la eyaculación por debajo del límite de referencia inferior <4% espermatozoides morfológicamente normales.
- 2.3.1.12. **Oligo-Asteno-zoospermia:** alteraciones en el recuento y en la movilidad de los espermatozoides.
- 2.3.1.13. **Teratozoospermia:** presencia de espermatozoides con una morfología anormal. Algunos autores proponen una subclasificación posterior atendiendo a la forma de la cabeza de los espermatozoides. Por lo tanto, la teratozoospermia se clasifica en macrozoospermia (o síndrome de cabeza de esperma macrocefálico) y globozoospermia (o cabeza redonda) (13).
- 2.3.1.14. **Oligo-Asteno-Teratozoospermia:** Perturbación de los tres parámetros.

En el presente estudio, se consideraron los valores de referencia publicados por la OMS en el años 2010 (12). Sin embargo, dependiendo del centro en el que se realicen los análisis, los valores de referencia pueden variar ligeramente por lo que se deben especificar los criterios de referencia a la hora de informar acerca de los resultados.

En este punto, se ha querido realizar un inciso para recordar el proceso de la espermatogénesis. La espermatogénesis es uno de los procesos de diferenciación celular más complejos conocidos. Involucra más de 2.300 genes que intervienen en la regulación del desarrollo testicular, el desarrollo y la maduración de las células germinales (14). Es el proceso de diferenciación de las espermatogonias en espermatozoides, en el cual se requiere la participación de varios tipos de celulares, hormonas, factores paracrinos, genes y reguladores epigenéticos (15). Las etapas de este proceso (Figura 1) tienen lugar en los túbulos seminíferos dentro de los testículos, y son: proliferación de espermatogonias; diferenciación espermatogonial en

espermátocitos; división meiótica de espermátocitos que producen espermátidas; maduración de espermátidas redondas; y el lanzamiento de espermatozoides maduros en la luz del túbulo testicular.

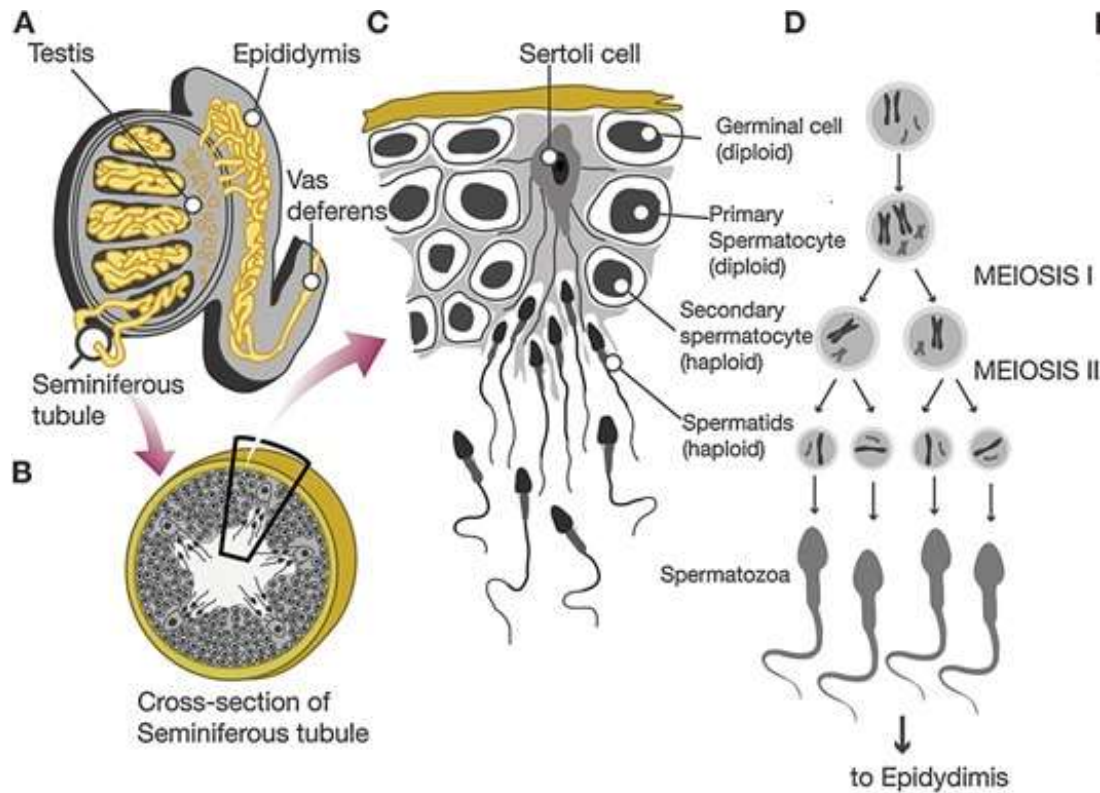


Figura 1. Espermatogénesis de mamíferos. R: La espermatogénesis tiene lugar en los túbulos seminíferos dentro de los testículos. B: las células germinales primordiales (espermatogonias) se diferencian en espermátidas primarias y secundarias, espermátocitos y espermatozoides. C: las células de Sertoli proporcionan el ambiente para una espermatogénesis exitosa. D: Esquema de meiosis I y II. (16).

2.4. ANÁLISIS HORMONALES

La reproducción implica la integración de señales hormonales que actúan en múltiples sistemas para generar un resultado fisiológico sincronizado (17), de tal forma que es imprescindible una normal estimulación hormonal a fin de lograr una correcta espermatogénesis y una función sexual también normal. Por este motivo, otro de los análisis realizados en la práctica clínica es el análisis hormonal. Las hormonas habitualmente analizadas son: tirotropina (TSH), prolactina, folitropina (FSH), lutropina (LH), progesterona y testosterona. En algunas ocasiones, se solicita un análisis más completo que puede incluir también: estradiol 17-beta, 17-hidroxiprogesterona, Dehidroepiandrosterona (DHEA-S), anticuerpos antimicrosomales (AMA), globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG) y la hormona antimülleriana.

2.4.1. Tirotropina (TSH)

La tirotropina u hormona estimulante de la tiroides (TSH, del inglés *Thyroid-Stimulating Hormone*) es una hormona producida por la hipófisis que regula la producción de hormonas tiroideas por la glándula tiroides.

Se ha descrito que el hiper e hipotiroidismo conllevan efectos adversos sobre sistema reproductor. Mientras que los efectos de la disfunción tiroidea en la función gonadal femenina son bien conocidos, su impacto en la función reproductiva masculina sigue siendo controvertido. Se ha propuesto que el hipotiroidismo puede afectar a la función eréctil y a la calidad del semen en los hombres, concretamente, la morfología de los espermatozoides puede verse significativamente afectada (18).

2.4.2. Prolactina

La prolactina es una hormona proteínica producida y secretada por la glándula pituitaria anterior. La evidencia indica que la hiperprolactinemia es una causa frecuente de disfunción reproductiva y puede causar infertilidad en hombres y mujeres (19).

2.4.3. Folitropina (FSH)

La hormona estimuladora del folículo u hormona foliculoestimulante, FSH por sus siglas en inglés, interviene en los procesos de gametogénesis tanto en mujeres como en hombres. Concretamente en hombres, se ha observado que la concentración de FSH se halla negativamente relacionada con la concentración de espermatozoides (20).

2.4.4. Inhibina-B (Inh-B)

La inhibina B es una glucoproteína responsable de regular a la síntesis de FSH e inhibir la secreción de FSH por parte de la hipófisis en los varones. Por este motivo se ha descrito relacionada con la infertilidad masculina, especialmente en individuos con azoospermias no obstructivas (ANO) (21).

2.4.5. Lutropina (LH)

La lutropina u hormona luteoestimulante (LH), estimula a las células de Leyding en la producción de testosterona en los hombres.

2.4.6. Testosterona

La testosterona ejerce un papel fundamental en el desarrollo de los caracteres sexuales y participa en el proceso de la espermatogénesis.

Un resumen sobre estas últimas hormonas sería: el hipotálamo es el responsable de la producción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la cual a su vez actúa estimulando a la hipófisis para segregar gonadotrofinas: la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), las cuales activan las células funcionales testiculares provocando la producción de espermatozoides y de testosterona (21).

La siguiente tabla (**Tabla 3**) muestra los estudios hormonales que pueden ser recomendados en algunas situaciones clínicas. Sin embargo, y tal y como se comentó al inicio del presente estudio, a la hora de evaluar la infertilidad masculina es de vital importancia que la valoración hormonal sea conjunta con una correcta anamnesis, exploración clínica, estudios seminales y genéticos que permitan en la medida de lo posible establecer un pronóstico y orientar la práctica clínica.

Tabla 3. Estudios hormonales recomendados en función de los resultados del seminograma e interpretación orientativa de los resultados (21).

Seminograma	Hormona	Interpretación orientativa de los resultados:
Azoospermia: LH, FSH, testosterona, inh-B.		
	FSH - inh-B: niveles normales	Probable azoospermia obstructiva. Posible recuperación espermática (puncion).
	FSH ↑ - inh-B ↓:	Probable ANO.
	Inh-B > 20 pg/ml.	Probable recuperación espermática.
	Inh-B < 20 pg/ml.	Dudosa recuperación espermática.
	FSH ↑ - inh.B ↓	Con ANO: dudosa recuperación espermática.
Oligozoospermias: FSH, inh-B.		
	FSH - inh-B : niveles normales	Dudosa eficacia de un tratamiento hormonal estimulador.
	FSH ↑ - inh-B ↓	Improbable beneficio de un tratamiento hormonal.
	FSH ↓ - inh-B ↓	Posible beneficio de un tratamiento estimulativo hormonal.
Astenozoospermias y/o teratozoospermias:		
Dudosa utilidad de las determinaciones hormonales en estos pacientes.		
Abreviaturas: ↑: Elevada. ↓: Disminuida. LH: Lutropina. FSH: Folitropina. Inh-B: Inhibina B. ANO: Azoospermia No Obstructiva.		

2.5. ESTUDIOS GENÉTICOS ASISTENCIALES

Las causas genéticas conocidas en la infertilidad masculina constituyen aproximadamente el 30% de los casos de infertilidad (5). Se ha descrito que aproximadamente el 20% de los pacientes azoospermicos, presentan algún defecto genético causal (22). Los fenotipos de infertilidad se han asociado con anomalías genéticas específicas, como las cromosómicas, las microdeleciones en el cromosoma Y o las mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*) (23). Es por este motivo por el que estas son las pruebas diagnósticas más habituales llevadas a cabo en pacientes con infertilidad masculina en la práctica clínica.

2.5.1. Alteraciones cromosómicas

Una posible causa de infertilidad masculina es la presencia de alteraciones cromosómicas y se ha descrito que el análisis cromosómico puede explicar la infertilidad en más del 10% de los varones azoospermicos. La incidencia de las anomalías cromosómicas es de un 0,6% en la población general, mientras que en la población de varones infértiles este porcentaje asciende al 12,6% (24). Se ha propuesto que las anomalías cromosómicas aumentan gravemente el riesgo a presentar daños durante la espermatogénesis, siendo la incidencia de anomalías estructurales autosómicas 10 veces mayor (4%) en pacientes con <10 millones de espermatozoides por mililitro en comparación con la población general (3). Las alteraciones cromosómicas más

frecuentemente asociadas a la infertilidad masculina son las alteraciones numéricas o aneuploidías como el Síndrome de Klinefelter, con fórmula: XXY, y las alteraciones estructurales (translocaciones robertsonianas, translocaciones recíprocas, inversiones, duplicaciones) (14).

2.5.1.1 Anomalías numéricas o aneuploidías

La inadecuada separación de los cromosomas durante la meiosis puede dar como resultado gametos desequilibrados genéticamente, que pueden dar como resultado embriones aneuploides (trisómicos o monosómicos). La aneuploidía es la anomalía cromosómica más común en los seres humanos, se produce en el 5% de todos los embarazos y en el 0,3% de los nacidos vivos (4). Su incidencia en varones infértiles varía de 2 a 15%, dependiendo de la gravedad del daño espermatogénico. En los varones esto se traduce a problemas en la reproducción debido a la alta tasa de fracaso en la recombinación, así como en la aneuploidía de los espermatozoides (25).

El **Síndrome de Klinefelter (SK)** es el trastorno cromosómico sexual más frecuente en hombres, su incidencia es de 1/650 nacidos vivos y se estima que más del 70% de los afectados pueden permanecer sin ser diagnosticados a lo largo de su vida (24, 26). A pesar de que su fenotipo es muy variable, las manifestaciones clínicas más habituales son hipogonadismo y azoospermia en más del 90% de los casos (10). La forma clásica de SK se caracteriza por un cariotipo (47,XXY) y representa el 80-90% de los casos (27). La superdotación de un cromosoma X deriva de la no disyunción meiótica durante la gametogénesis de los padres o de las divisiones de las células mitóticas después de la zigótica durante la embriogénesis temprana (22).

Otras aneuploidías de mayor gravedad son los cariotipos (48,XXXY) o (48,XXYY), o cromosomas X estructuralmente anormales (por ejemplo, 47, iXq, Y) o los mosaicismos como (47,XXY/46,XY) (27). También se ha descrito que la fórmula 47,XXY puede dar problemas seminales y de infertilidad, aunque no hay estudios concluyentes. Estos cariotipos son menos frecuentes y constituyen aproximadamente el 10-20% de los casos restantes.

2.5.1.2. Anomalías estructurales

Las alteraciones cromosómicas de los autosomas generalmente son estructurales (translocaciones robertsonianas, translocaciones recíprocas, inversiones, etc.). Habitualmente cursan con oligozoospermia (21).

El segundo trastorno cromosómico más frecuente asociado a la infertilidad masculina son las **Translocaciones Robertsonianas (TR)** (24, 28). Estas translocaciones ocurren cuando dos cromosomas acrocéntricos (es decir, los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22) fusionan sus brazos largos, lo que conduce a la pérdida del material genético – heterocromatina- en los brazos cortos (25). La tasa de prevalencia de la translocación robertsonianas es de 0,9 en varones infértiles, esta cifra es 9 veces mayor que en la población general (29). A pesar del fenotipo normal, la espermatogénesis puede estar alterada debido a la segregación defectuosa de los cromosomas fusionados, así como a las interferencias en el apareamiento y la segregación de otros cromosomas (25). Los hombres afectados muestran una mayor incidencia de aneuploidía espermática, y existe el riesgo de transmitir la translocación a la descendencia, bien en equilibrio bien en forma desequilibrada.

Las **translocaciones recíprocas** se observan en 0,9 de 1000 recién nacidos e implican el intercambio de dos segmentos cromosómicos no relacionados. Se han encontrado en aproximadamente el 1% de los hombres infértiles y las más graves desde el punto de vista de la infertilidad se dan entre los cromosomas X e Y.

Otro tipo de anomalía estructural son las **inversiones**, que son 8 veces más frecuentes en hombres infértiles que entre la población general. Las que tienen más riesgo de infertilidad suelen ser las del cromosoma 1 – sin contar la de la heterocromatina del centrómero- porque, al ser el cromosoma más grande, tiene muchos genes.

Es interesante recordar la importancia de la detección de alteraciones del cariotipo puesto que en ocasiones revelan síndromes clínicos multisistémicos, en los que la infertilidad es solo una de las diversas características (como el SK). En esta línea, un diagnóstico preciso de las alteraciones cromosómicas es de vital importancia puesto que proporciona un alivio psicológico que aclara una posible causa de la infertilidad, puede anticipar problemas de salud futuros que pasarían inadvertidos en los hombres infértiles, y el asesoramiento genético podría dar una evaluación del riesgo de transmisión de la alteración conocida a la descendencia (30).

2.5.2. Microdeleciones en el cromosoma Y

El cromosoma Y ha sido ampliamente estudiado con el objetivo de identificar factores genéticos implicados en la infertilidad masculina. En este cromosoma se localizan genes fundamentales para la determinación sexual, diferenciación y la fertilidad.

Son de gran interés en términos de infertilidad las subregiones AZF. En la región Yq11.2 se encuentran localizadas las regiones AZF o regiones del Factor de Azoospermia, que contienen genes implicados en la espermatogénesis (31, 32) (**Figura 2**).

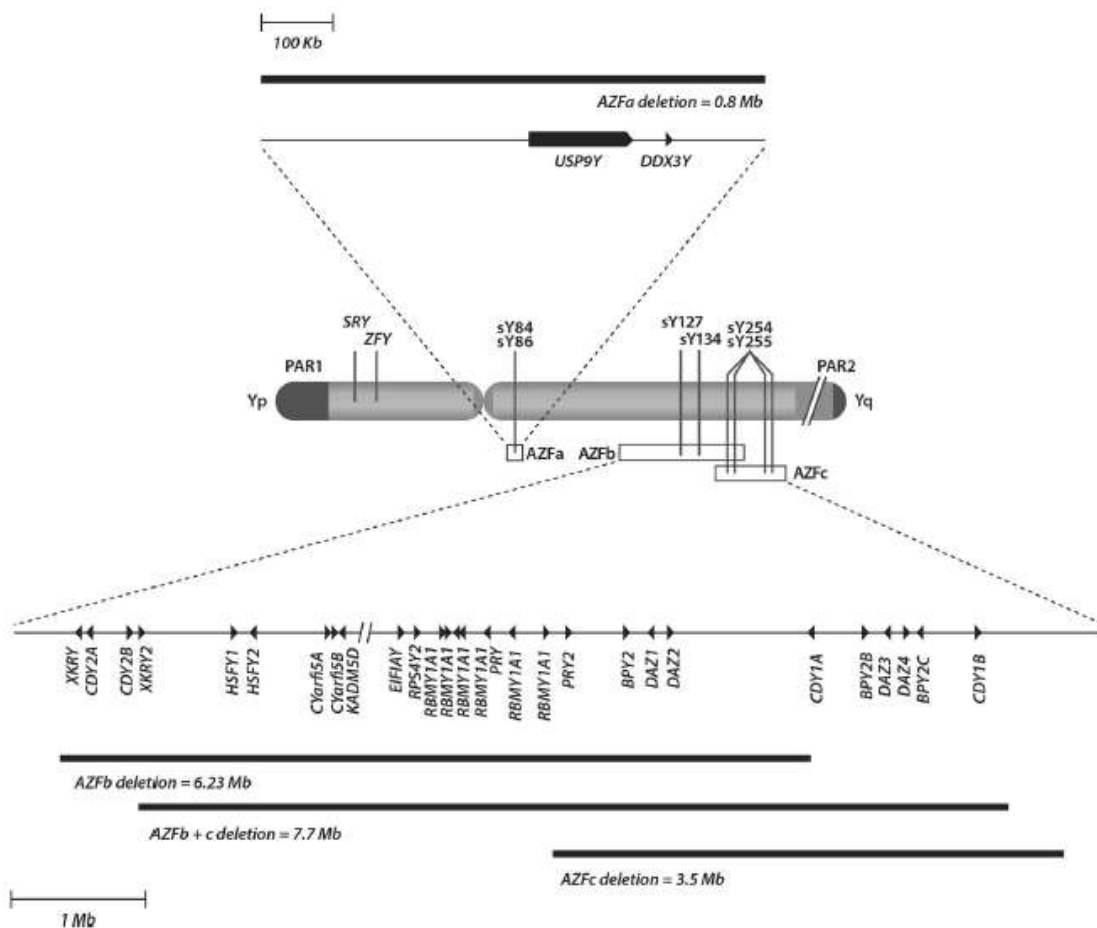


Figura 2. Mapa del cromosoma Y humano que representa las subregiones AZF y su contenido genético. La región AZFa de aproximadamente 12.9 a 13.7 Mb del cromosoma y contiene dos genes de copia única, *USP9Y* y *DDX3Y*. AZFb abarca desde aproximadamente 18 a 24.7 Mb del cromosoma y AZFc de aproximadamente 23 a 26.7 Mb. (11).

La región AZFa contiene pocos genes, a saber, *USP9Y*, *DDX3Y* y *UTY*. Este último, *UTY*, no está directamente relacionado con la infertilidad masculina. La delección de los genes de esta región se ha asociado con la disrupción espermatogénica, en particular con el síndrome de células de Sertoli único y la hipospermatogénesis. La región AZFb contiene mayor número de genes, entre los que se encuentran: *CDY2A*, *CDY2B*, *PRORY* / *CYorf17*, *EIF1AY*, *HSFY1*, *HSFY2*, *PRY*, *RBM1A1*, *RBM1B*, *RBM1D*, *RBM1E*, *RBM1F*, *RBM1J* y *RPS4Y2*. El papel que desempeñan algunos de estos genes durante la espermatogénesis ha sido descrito en la literatura, por ejemplo, la pérdida de los genes *HSFY1* y *HSFY2* repercute en la maduración de los espermatoцитos y la delección o subexpresión de *HSFY* se asocia con la detención de la maduración testicular. La región AZFc se solapa con la anterior y contiene genes como *CDY1B*, *CYorf17*, *EIF1AY*, *PRY*, *PRY2*, *RBM1A1*, *RBM1B*, *RBM1D*, *RBM1E*, *RBM1F*, *RBM1J*, *RPS4Y2*, *BPY2*, *BPY2B*, *DAZ1*, *DAZ2*, *DAZ3*, *KDM5D*, *TTY3*, *TTY4*, *TTY6*, *TTY17*, *TSPY1*, *CSPG4LY*, *GOLGA2LY*, etc. Como en el caso anterior, algunos de estos genes han sido descritos como importantes para la espermatogénesis (25).

Se han asociado anomalías estructurales, como delecciones y duplicaciones en las regiones AZF con la infertilidad masculina. Se ha observado que la delección de cualquiera de las tres regiones anteriormente descritas (29), designadas como microdelecciones AZF conduce a la infertilidad debido a oligo- o azoospermia severa (22). En la última década, muchos investigadores han descrito la ocurrencia de microdelecciones en pacientes infértiles en todo el mundo y el diagnóstico molecular de las delecciones se ha convertido en una prueba importante en el estudio diagnóstico de la infertilidad masculina (33) .

Se han descrito las microdelecciones en el cromosoma Y como la causa diagnóstica molecular más común de falla espermatogénica en el contexto de azoospermia no obstructiva u oligozoospermia grave (1). Además, las delecciones clásicas de la región AZF no se han descrito en hombres normozoospermicos, por lo que representan una relación clara causa y efecto con la falla espermatogénica.

El tipo de delección más frecuente es la delección de la región AZFc (~ 80%) seguido de las delecciones AZFa (0.5-4%), AZFb (1-5%) y AZFbc (1-3%). Las delecciones que se detectan como AZFabc se encuentran relacionadas frecuentemente con un cariotipo anormal como 46, XX masculino o iso (Y) (33).

2.5.3. Fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es un trastorno autosómico recesivo causado por mutaciones en el gen *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) (7q31.2) y representa el trastorno autosómico recesivo más frecuente en Europa en Europa (3). La prevalencia en el caso de los afectados es de 1 cada 3.500 nacimientos y para los heterocigotos 1 de cada 25 (25).

El gen *CFTR* se encuentra en el brazo corto del cromosoma 7 y codifica una proteína de membrana que funciona como un canal de iones y también influye en la formación del conducto de la eyaculación, vesícula seminal, conducto deferente y dos tercios distales del epidídimo (estructuras del conducto de Wolff) (29). Actualmente, en la base de datos del *CFTR* (<http://www.genitica.sickkids.on.ca/cftr/>) se recogen unas 2027 variantes de este gen, siendo la mutación deltaF508 la más prevalente (25).

Los portadores en heterocigosis pueden presentar pocos espermatozoides o tener afectados los vasos eferentes. La ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD) se encuentra en el 1% de los hombres con infertilidad y está presente en el 6% de los casos de azoospermia obstructiva (25). Casi el 95% de los hombres con FQ tienen CBAVD, sin embargo con el uso de técnicas de reproducción asistida (TRA), es posible que los hombres con CBAVD tengan descendencia (34). En este punto es importante destacar que la CBAVD también se da en portadores heterocigotos de FQ con una frecuencia superior a la de la población general (5%).

Además de variantes patogénicas o mutaciones en el gen *CFTR*, se han descrito variantes adicionales que incluyen el polimorfismo 5T dentro del intrón 8 en el gen *CFTR* que se encontró en el 21% de los sujetos y se considera una mutación leve, específicamente asociada con el aumento de riesgo de la infertilidad masculina en los casos en los que va en *trans* con una mutación.

También se ha descrito que el polimorfismo 7T dentro del intrón 8 –normal en la población general- junto con la mutación R117 del exón 4 en *cis* en el gen *CFTR* puede producir infertilidad. Otras mutaciones comunes incluidas G542X, G551D, R553X, W1282X y N1303K se producen con un frecuencia de 1-2%. Por lo que las mutaciones del gen *CFTR* son una causa relativamente frecuente de infertilidad (29).

2.6. OTRAS ANOMALÍAS GENÉTICAS

A pesar de que en la práctica clínica las alteraciones cromosómicas, las microdeleciones del cromosoma Y y la fibrosis quística sean las causas genéticas más estudiadas, existen otras anomalías genéticas que pueden influir en la infertilidad masculina.

2.6.1. Genes del cromosoma Y

Como ya se ha comentado, es ampliamente conocida la importancia del cromosoma Y en la determinación sexual, el desarrollo embrionario masculino y la fertilidad. Esta importancia se debe a que en el cromosoma Y se encuentran localizados numerosos genes críticos para el desarrollo gonadal y la espermatogénesis (32). Entre los genes estudiados, se ha dedicado gran atención al gen SRY, ubicado en el brazo corto del cromosoma Y, como responsable de la determinación del sexo masculino (22).

Sin embargo, es interesante destacar que el cromosoma Y del mamífero superior carece de la mayoría de los genes localizados originalmente en los cromosomas Y ancestrales. Se ha descrito que algunos genes originales del cromosoma Y se trasladaron a autosomas, y que algunos de estos genes trasladados se expresan en el testículo por lo que participan en la espermatogénesis. Por lo tanto, no sólo los genes del cromosoma Y tienen importancia en la fertilidad masculina, sino que algunos genes adquiridos vinculados al cromosoma X también pueden estar implicados en la infertilidad en los hombres y en la producción de esperma.

2.6.2. Mutaciones puntuales

De la mano con el avance tecnológico, aumenta la descripción de genes asociados con la fertilidad en los hombres. Se han descrito más de 3000 genes asociados con la espermatogénesis, sin embargo tan sólo un 0,01% de estos genes se han evaluado en hombres infértiles (25). Algunos ejemplos de mutaciones genéticas asociadas a Síndromes concretos, que tienen importancia clínica para la infertilidad masculina humana son: mutaciones en el gen *CFTR* –ya mencionadas previamente-, mutaciones en los genes *KAL 1* y *FGR1* (en individuos con el Síndrome de Kallmann) y mutaciones en el gen *DPY19L2* (25).

Es difícil evaluar con precisión la contribución genética a la infertilidad, puesto que probablemente todos los factores tengan un componente genético. Sin embargo, genotipos específicos se han asociado con fenotipos de infertilidad, por lo que los estudios de genes específicos han determinado la naturaleza poligénica y multifactorial

de la infertilidad (23). Además de los factores adquiridos y los factores genéticos descritos hasta la fecha, sería necesario tener en cuenta otro tipo de factores, como factores epigenéticos o factores ambientales. Los factores epigenéticos son aquellos que alteran la expresión génica sin cambiar la secuencia de ADN. Entre estos procesos se encuentra: la metilación del ADN, las modificaciones postraduccionales de histonas, la remodelación de la cromatina y la regulación de microARN entre otros (15, 25).

En la actualidad, se han incrementado los intentos por estudiar más causas de infertilidad masculina y proporcionar un diagnóstico y tratamiento más personalizado. Hasta la fecha existen pocos estudios epidemiológicos a gran escala que aborden este tema, y a menudo los estudios que se han realizado no realizan grandes esfuerzos en determinar si la infertilidad se debe a algún factor genético (7, 11, 30).

La evaluación inadecuada de las causas de la infertilidad masculina conduce a una situación común en la que la pareja femenina es sometida a procedimientos TRA invasivos, estresantes y costosos sin considerar soluciones alternativas para manejar la infertilidad de la pareja (7). Además, esta práctica ignora el riesgo de que la descendencia herede la condición causal de la infertilidad de su progenitor en caso de que ésta sea genética (6).

El mayor estudio monocéntrico prospectivo a largo plazo para las causas de la infertilidad masculina realizado hasta la fecha (7), concluyó que a pesar de que las pautas actuales se encuentran bien establecidas, en la práctica clínica se diagnostican tan solo el 40% de los pacientes. Estos datos muestran una brecha obvia en nuestra comprensión actual de las causas, mecanismos biológicos y vías responsables de la espermatogénesis alterada y de la fisiología reproductiva masculina.

En definitiva, las herramientas de diagnóstico de infertilidad masculina son limitadas en la actualidad y más de un 50% de los casos no se diagnostican y se atribuyen a formas idiopáticas (11). Las formas idiopáticas de la infertilidad masculina se deben presumiblemente a factores genéticos y ambientales conjuntamente. A la vista del elevado número previsto de genes que participan en la gametogénesis masculina, es probable que las mutaciones o polimorfismos en genes candidatos sean responsables de la mayoría de las formas “idiopáticas” de los trastornos de la espermatogénesis (35).

El presente trabajo, se ha centrado en los casos que habitualmente llegan a la Consulta de Asesoramiento Genético del Servicio de Genética del Hospital Universitario Cruces (HUC) para el diagnóstico de las causas genéticas más frecuentes de infertilidad masculina.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

En la actualidad, las herramientas de diagnóstico genéticas de las que se dispone para el diagnóstico de infertilidad masculina son el estudio de las anomalías cromosómicas, de las microdeleciones en el cromosoma Y o de las mutaciones en el gen *CFTR*.

Nuestra hipótesis es que estas herramientas de diagnóstico empleadas son limitadas y es necesario definir otros estudios genéticos a realizar en la práctica clínica.

3.2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es proporcionar las recomendaciones para el estudio genético en la evaluación de los trastornos de la infertilidad masculina por factor seminal.

El objetivo secundario es analizar la práctica clínica rutinaria actual en cuanto a los estudios genéticos en el HUC.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica para identificar los antecedentes históricos descritos en la literatura en cuanto a alteraciones cromosómicas y genes asociados a infertilidad masculina mediante la base de datos Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Se utilizaron las palabras claves “male infertility and gene” y “male infertility and chromosome anomaly”. Entre las características de la búsqueda, se seleccionaron los artículos de libre acceso publicados en los últimos 5 años y realizados en humanos. Los artículos obtenidos en la búsqueda fueron revisados uno a uno y se seleccionaron aquellos que estudiaban alteraciones cromosómicas y genes asociados a la infertilidad masculina.

4.2. Característica de la muestra

La muestra tuvo un tamaño total de 60 individuos que padecían algún tipo de infertilidad masculina por factor seminal. Los pacientes fueron aquellos que acudieron a la Consulta de Asesoramiento Genético del Servicio de Genética del HUC entre 2013 y 2017. Todos ellos fueron remitidos desde la Unidad de Reproducción Humana (URH) por los facultativos responsables.

Los datos clínicos fueron recogidos por la responsable de la Consulta y directora de este Trabajo de la Historia Clínica Electrónica de Osakidetza (Osabide-Global) y pasados a la estudiante de Máster de forma anónima. Además, fueron cotejados con un listado de biopsias testiculares cedido por el laboratorio de Andrología (Dra. Corcóstegui).

Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron el documento de consentimiento informado del Servicio de Genética del HUC para estudios genéticos asistenciales, mediante el cual el paciente consiente el uso de sus datos anónimos para investigación.

El presente estudio respeta los principios fundamentales especificados en la Declaración de Helsinki (Asamblea Médica Mundial), el Convenio del Consejo de Europa sobre Derechos Humanos y Biomedicina, la Declaración Universal de la UNESCO sobre Genoma Humano y Derechos Humanos, y los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de investigación biomédica, protección de datos personales y bioética. También respeta las disposiciones de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica y demás legislación vigente en la materia.

4.3. Estudios revisados

4.3.1. Cariotipo en sangre periférica

Estudio del cariotipo con bandas G en 20 metafases a partir de una muestra de sangre periférica en busca de la fórmula cromosómica que permita ver alteraciones en el número y la estructura de los cromosomas. Los cariotipos se realizaron en el laboratorio de Citogenética del Servicio de Genética del HUC.

4.3.2. Estudio de mutaciones frecuentes del gen *CFTR*

A partir del ADN obtenido una muestra de sangre periférica se estudiaron 50 mutaciones del gen *CFTR* mediante análisis de fragmentos (kit Elucigene®CF-EU2v1, CE-IVD). El análisis se realizó mediante un secuenciador automático de capilares (ABI3130XL Applied Biosystems). Este estudio se realiza en el laboratorio de Inmunología del HUC.

Mutaciones estudiadas: R347H, R347P, 2789+5G>A, 3120+1G>A, 711+1G>T, R334W, I507del, F508del, 3849+10KbC>T, 1677delTA, 1078delT, V520F, L206W, W1282X, R560T, 2347delG, Q890X, R553X, G551D, S549R(T>G), S549N, M1101K, G542X, 3905insT, Y1092X(C>A), S1251N, 444delA, 1811+1.6KbA>G, 1717-1G>A, R117H, R117C, N1303K, Y122X, 394delTT, G85E, R1066C, 1898+1G>A, W846X, 2184delA, D1152H, CFTRdel2,3, P67L, 2143delT, E60X, 3659delC, 3272-26A>G, 621+1G>T, A455E, R1162X, R1158X.

4.3.3. Estudio de microdeleciones del cromosoma Y

A partir del ADN obtenido de una muestra de sangre periférica se amplificaron marcadores STS mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) multiplex y se analizaron los productos marcados mediante fluorocromos por electroforesis capilar en secuenciador automático.

Los marcadores estudiados fueron: AZF a (sY86, sY625, sY84, M259), AZFb (sY127, sY131, sY134), AZFc (sY254, sY255, sY157), Otros: SRY (sY14), ZFY/ZFX, sY81, sY90. Estos estudios se realizan en el laboratorio de Genética del Hospital Universitario Donosti.

4.3.4. Análisis hormonales y seminograma

Se han revisado los seminogramas de los 60 pacientes, todos ellos realizados en el laboratorio de Andrología de la URH del HUC. Asimismo, se han revisado los estudios hormonales en aquellos pacientes que dieron una anomalía genética

4.4. Elaboración de bases de datos

Se elaboró una base de datos en Excel a partir de la información obtenida mediante las historias clínicas de los pacientes. Para cada individuo se registró el seminograma, analíticas hormonales en los casos en los que las hubiera y los estudios genéticos realizados en cada caso.

5. RESULTADOS

5.1. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

Se realizó una revisión bibliográfica con el fin de identificar los antecedentes históricos descritos en la literatura en cuanto a genes asociados a infertilidad masculina. La búsqueda fue realizada el 15 de mayo del 2018 mediante la base de datos Pubmed.

Los términos empleados en la búsqueda fueron “male infertility and gene” y los criterios que se emplearon para la selección de los artículos fueron: a) aportar información relativa a la infertilidad masculina por factor genético; b) los estudios debían ser realizados en humanos; c) estudios publicados en castellano o en inglés y d) estudios publicados entre el año 2013 y el 2018.

La búsqueda dio como resultado 71 artículos de los cuales 61 fueron descartados y 10 fueron incluidos. La **Figura 3** representa el proceso de selección de artículos.

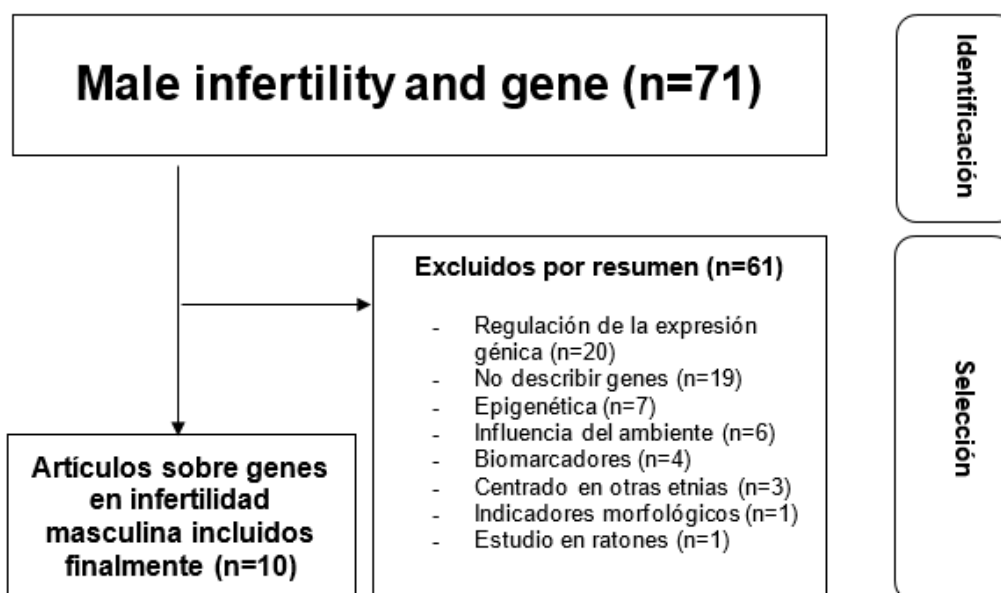


Figura 3. Flow chart que indica el proceso de inclusión y exclusión de artículos para la búsqueda “male infertility and gene”. De los 71 seleccionados inicialmente, 10 artículos estudian genes asociados a infertilidad masculina.

Todos los genes hallados en esta revisión se encuentran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Genes asociados a fertilidad masculina.

Genes	Localización	Artículo	Seminograma
<i>NR5A1</i>	9q33.3	(Ropke et al, 2017)	
<i>DMRT1</i>	9p24.3	(Ropke et al, 2017)	
<i>TEX11</i>	Xq13.1	(Ropke et al, 2017)	Azoospermia
<i>RHOX</i>	Xq24	(Ropke et al, 2017)	Oligozoospermia
<i>ANOS1 (KAL1)</i>	Xp22.31	(Ropke et al, 2017)	
<i>USP26</i>	Xq26.2	(Ropke et al, 2017)	
<i>SOX9</i>	17q24.3	(Majzoub et al, 2017)	
<i>DAX1</i>	Xp21.2	(Majzoub et al, 2017)	
<i>CCDC39</i>	3q26.33	(Ji et al, 2017)	Oligoastenozoospermia
<i>DNAAF1</i>	16q24.1	(Ji et al, 2017)	
<i>DNAAF2</i>	14q21.3	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>DNAAF3</i>	19q13	(Ji et al, 2017)	
<i>DNAH5</i>	5p15.2	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>DNAI1</i>	9p13-p21	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>DNAI2</i>	17q25	(Ji et al, 2017)	
<i>DYX1C1</i>	15q21.3	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>HEATR2</i>	7p22.3	(Ji et al, 2017)	
<i>HYDIN</i>	16q21-q23	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>LRRC6</i>	8q24.22	(Ji et al, 2017)	Astenozoospermia
<i>RSPH1</i>	21q22.3	(Ji et al, 2017)	
<i>RSPH4A</i>	6q22.1	(Ji et al, 2017)	
<i>RSPH9</i>	6p21.1	(Ji et al, 2017)	
<i>ZMYND10</i>	3p21.3	(Ji et al, 2017)	
<i>CYP17A1</i>	10q24.32	(Auchus et al, 2016)	
<i>NRF2</i>	2q31.2	(Yu et al, 2015)	
<i>GST</i>	14q24.3	(Yu et al, 2015)	
<i>SOD</i>	1p34.2	(Yu et al, 2015)	
<i>NOS</i>	17q11.2	(Yu et al, 2015)	
<i>GPX</i>	19p13.3	(Yu et al, 2015)	
<i>CAT</i>	11p13	(Yu et al, 2015)	
<i>FSHB</i>	11p14.1	(Skakkebaek et al, 2016)	
<i>FSHR</i>	2p16.3	(Skakkebaek et al, 2016)	
<i>TEX11</i>	Xq13.1	(Skakkebaek et al, 2016), (Krausz et al, 2015)	
<i>PLAG1</i>	8q12.1	(Juma et al, 2016)	
<i>PLEC1</i>	8q24.3	(Krausz et al, 2016)	
<i>AURKC</i>	19q13.43	(De Braekeleer et al, 2015)	Tetrazoospermia: macrozoospermia
<i>SPATA16</i>	3q26.32	(De Braekeleer et al, 2015)	Tetrazoospermia: globozoospermia
<i>PICK1</i>	22q13.1	(De Braekeleer et al, 2015)	Tetrazoospermia: globozoospermia
<i>DPY19L2</i>	12q14.2	(De Braekeleer et al, 2015)	Tetrazoospermia: globozoospermia
<i>CFTR</i>	7Q31.2	(Tahmosbpour et al, 2014)	Azoospermia - oligospermia
<i>INSL3-LGR8</i>	19p13.11	(Tahmosbpour et al, 2014)	
<i>KAL-1</i>	Xp22.31	(Tahmosbpour et al, 2014)	
<i>MTHFR</i>	1p36.22	(Tahmosbpour et al, 2014)	Azoospermia
<i>ESR</i>	6q25.1-q25.2	(Tahmosbpour et al, 2014)	
<i>FSHR/LHR</i>	2p16.3	(Tahmosbpour et al, 2014)	
<i>AR</i>	Xq.12	(Ji et al, 2017), (De Braekeleer et al, 2015), (Tahmosbpour et al, 2014)	

También se realizó una búsqueda bibliográfica “male infertility and chromosome anomaly”, con el fin de ampliar la información en cuanto a anomalías cromosómicas e incluir aspectos interesantes que pudieran ser potencialmente citados en el presente trabajo.

Esta búsqueda fue realizada el 24 de septiembre del 2018 mediante la base de datos Pubmed. Los criterios que se emplearon para la selección de los artículos fueron: a) aportar información relativa a la infertilidad masculina por alteraciones cromosómicas; b) los estudios debían ser realizados en humanos; c) los artículos incluidos en la búsqueda debían ser revisiones d) estudios publicados en castellano o en inglés y e) estudios publicados entre el año 2013 y el 2018.

La búsqueda dio como resultado 14 artículos de los cuales 8 fueron descartados y 6 fueron incluidos. La **Figura 4** representa el proceso de selección de artículos.

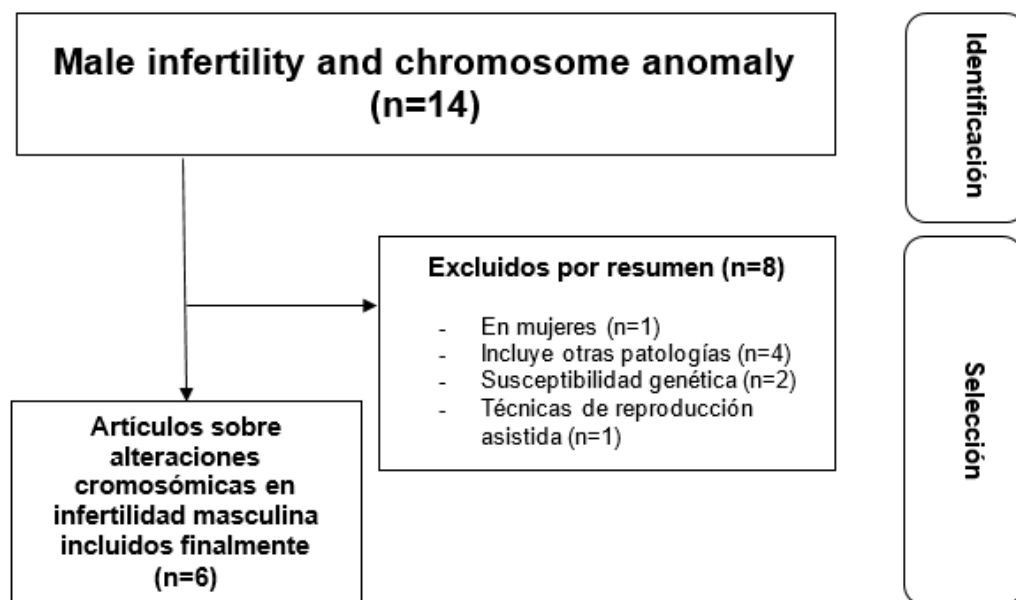


Figura 4. Flow chart que indica el proceso de inclusión y exclusión de artículos para la búsqueda “male infertility and chromosome anomaly”. De los 14 seleccionados inicialmente, 6 artículos estudian alteraciones cromosómicas asociados a infertilidad masculina.

5.2. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

La población de estudio incluyó un total de 60 individuos (**Tabla 5**). Las edades de los individuos que se incluyeron en el estudio comprenden desde los 21 a los 49 años, siendo la edad media 34,78 años.

Tabla 5. Características de la población de estudio.

Muestra	
Nº individuos	60
Edad media	34,78
Sexo	Masculino

5.3. RESULTADOS

Los 60 individuos incluidos en el estudio se clasificaron en función de los resultados del seminograma y del factor causal genético (cariotipo, microdeleciones del cromosomaY y mutaciones para el gen *CFTR* de la fibrosis quística) (**Tabla 6**). Se obtuvo que, de los 60 individuos, a 10 (16,67%) se les diagnosticó algún trastorno genético conocido, mientras que para 50 (83,33%) la etiología fue desconocida.

Tabla 6. Resultados de los estudios genéticos clasificados en función del seminograma y de los estudios genéticos.

Subgrupos basados en el diagnóstico	Total n (%)	Criotozoospermia n (%)	Azoospermia n (%)	Oligozoospermia severa n (%)	Astenotératozoospermia n (%)	Oligo-Asteno-Teratozoospermia n (%)	Oligo-Asteno-zoospermia n (%)	Teratozoospermia n (%)
Total	60 (100%)	5 (8,33%)	38 (63,33%)	2 (3,33%)	2 (3,33%)	4 (6,67%)	5 (8,33%)	1 (1,67%)
Causas genéticas	10 (16,67%)	2 (3,33%)	7 (11,67%)					
Anomalías cromosómicas:	7 (11,67%)	1 (1,67%)	5 (8,33%)					
47,XXY (SK)	4 (6,67%)		4 (6,67%)					
47,XYY	1 (1,67%)		1 (1,67%)					
45,XV, rob(13:14)(q10;q10)	2 (3,33%)	1 (1,67%)						1 (1,67%)
Microdelección Y	1 (1,67%)		1 (1,67%)					
Mutaciones CFTR	2 (3,33%)	1 (1,67%)	1 (1,67%)					
Etiología desconocida	50 (83,33%)	3 (5%)	31 (51,67%)	2 (3,33%)	2 (3,33%)	4 (6,67%)	5 (8,33%)	0 (0%)

De los 60 individuos, atendiendo a la clasificación en función de los resultados del seminograma, 38 individuos presentaron azoospermia (63,33%), 5 (8,33%) criptozoospermia, 5 (8,33%) oligo-asteno-zoospermia, 4 (6,67%) oligo-asteno-teratozoospermia, 3 (5%) asteno-teratozoospermia, 2 (3,33%) oligozoospermia severa, 2 (3,33%) asteno-teratozoospermia y 1 (1,67%) teratozoospermia.

Entre las **azoospermias**, 7 de los 38 individuos (18,42% de los azoospermicos y el 11,67% del total) fueron diagnosticados de alguna causa genética conocida, siendo la primera: **alteraciones en el cariotipo**. Entre las alteraciones observadas se detectaron cinco anomalías cromosómicas, cuatro de ellas fueron SK (47,XXY) y la quinta fue una aneuploidía llamada “fórmula cromosómica doble Y” (47,XYY). Otra causa genética hallada en pacientes con **azoospermia** fue una **mutación en el gen CFTR**, concretamente la mutación I507del en heterocigosis con 5T(12)/7T como polimorfismos en *trans* de riesgo añadido. Finalmente, un paciente obtuvo resultados positivos en cuanto a las **microdeleciones en el cromosoma Y en la región AZFc**.

En cuanto a los pacientes con **criptozoospermia**, 2 pacientes fueron diagnosticados de alguna causa genética conocida (40% de los criptozoospermicos y 3,33% del total). El primer paciente presentó una **mutación en el gen CFTR**: F508del en heterocigosis con polimorfismo 5T/9T y el segundo llevaba una **translocación robertsoniana** [45,XY,rob(13;14)(q10;q10)].

La última causa genética conocida se obtuvo para el único paciente **teratozoospermico** (1,67% del total) y fue también una **translocación robertsoniana** entre un cromosoma 13 y un cromosoma 14: 45,XY,rob(13;14)(q10;q10).

Para el resto de individuos incluidos en el estudio (83,33% del total), no se hallaron causas genéticas conocidas con los protocolos utilizados.

En cuanto a los análisis hormonales revisados (**Tabla 7**) se observaron diferentes alteraciones respecto a los valores de referencia para los individuos con causas genéticas conocidas de infertilidad masculina, excepto para el individuo con fórmula cromosómica XYY.

No se encontraron análisis hormonales en la Historia clínica ni en los casos de mutación en *CFTR* ni en el paciente teratozoospermico con translocación robertsoniana.

Tabla 7. Resultado de los análisis hormonales revisados clasificados en función de los resultados del seminograma y los estudios genéticos.

	TSH	Prolactina	FSH	LH	Testosterona
Azoospermia					
47,XXY (SK)	2,07	↑ 24,1	↑ 33,4	↑ 28,4	↓ 1,9
47,XXY (SK)	↑ 4,33	↑ 45,6	↑ 56,2	↑ 22,3	3,45
47,XXY (SK)	1,71	↑ 27,3	↑ 32,3	↑ 21,2	4,23
47,XXY (SK)	NA	NA	↑ 26,9	↑ 20,1	4,7
47,XYY	0,47	4	7	5,5	3,93
Microdelección Y	2,03	↑ 18,1	6,7	3,3	NA
Mutación <i>CFTR</i>	NA	NA	4,9	NA	NA
Criptozoospermia					
45,XY,rob(13:14)(q10;q10)	2,4	13	↑ 33,6	↑ 11,1	4,03
Mutación <i>CFTR</i>	NA	NA	NA	NA	NA
Teratozoospermia					
45,XY,rob(13:14)(q10;q10)	NA	NA	NA	NA	NA
Valores de referencia	[0.27-4.20]	[4.04-15.20]	[1.5-12.4]	[1.7-8.6]	[2.49-8.36]
Unidades	microU/mL	ng/mL	microUI/mL	microUI/mL	ng/mL
Abreviaturas: NA: No Aplicable por no tener datos.					

6. DISCUSIÓN

Como se ha visto en los resultados (**Tabla 6**), se obtuvo que, de los 60 individuos, a 10 (16,67%) se les diagnosticó algún trastorno genético conocido, mientras que para 50 (83,33%) la etiología fue desconocida.

Estos resultados difieren con lo descrito en la literatura, donde se propone que aproximadamente el 30% de los casos de infertilidad se deben a causas genéticas (5, 25) y que más del 50% de los casos no se diagnostican y se atribuyen a formas idiopáticas (11). Una posible explicación a tener en cuenta es que los pacientes estudiados en el presente trabajo fueron aquellos derivados al Consejo Genético, por lo que el porcentaje pudo verse afectado por no haber tenido en cuenta el total de pacientes con infertilidad masculina.

Entre los pacientes **azoospermicos**, se detectaron cinco **anomalías cromosómicas** (8,33%), cuatro de las cinco alteraciones fueron **SK** (47,XXY) y la quinta fue una **aneuploidía (47,XYY)**. Estos resultados coinciden con lo descrito en la literatura en cuanto a que las alteraciones cromosómicas puede explicar la infertilidad entorno al 10% de los varones azoospermicos (24) y en que el Síndrome de Klinefelter es el trastorno cromosómico sexual más frecuente en hombres (24, 26).

El **Síndrome de Klinefelter (SK)** es el trastorno cromosómico sexual más frecuentemente en hombres, se encuentra aproximadamente en 1/650 nacidos vivos (27, 36). En estos pacientes, se ha descrito que la producción genética excesiva derivada de la sobreexpresión de los genes del cromosoma X extra podría perjudicar la producción de andrógenos y la espermatogénesis.

En pacientes con Síndrome de Klinefelter, se ha descrito atrofia y disfunción testicular que puede afectar principalmente al compartimento tubular y la espermatogénesis. Los marcadores que reflejan la integridad del epitelio blástico como la **inhibina B** sérica y la **hormona antimülleriana** comienzan a disminuir desde la pubertad y son indetectables hasta la edad adulta, mientras que la **FSH** tiende a aumentar (26) debido al mal funcionamiento del receptor de la hormona (25). En general para los pacientes con azoospermia, se ha observado que los niveles séricos de **(FSH)** generalmente son elevados mientras que los niveles de **testosterona** son bajos en aproximadamente el 50% de los hombres afectados (37). Los niveles anormales de testosterona reflejan la insuficiencia de células de Leydig, que generalmente se acompaña con niveles elevados de la **LH** (11).

El resultado de los análisis hormonales revisados en pacientes con SK coincide con lo descrito en la literatura. Todos los individuos con SK estudiados mostraron elevados

sus niveles de FSH y LH. Respecto a la testosterona, a pesar de que en la literatura se ha descrito una disminución en sus niveles en pacientes con el SK, tan sólo uno de los cuatro SK incluidos en los resultados muestra valores alterados. En la **Tabla 7** se puede observar cómo el resto de valores de testosterona en SK se encuentran cercanos al límite inferior pero dentro del rango de normalidad. Esto es debido probablemente a la edad de nuestros pacientes, todavía jóvenes (35, 34, 36 y 34 años), pues la testosterona va descendiendo con la edad en los individuos con SK.

Además, en pacientes con SK se ha descrito la degeneración del epitelio seminífero asociada con una reducción en la densidad y el flujo vascular testicular (26). Sin embargo, en estos casos es posible que se produzca correctamente la espermatogénesis por lo que sería posible lograr un embarazo mediante una biopsia testicular, máxime si todavía mantienen los valores de la testosterona en el rango de la normalidad.

En los resultados también se detectó un caso de **aneuploidía (47,XYY)**, también conocida como Síndrome o fórmula doble Y. Se trata de una anomalía cromosómica sexual con una incidencia del 0,1% de los nacimientos en varones. El cromosoma Y adicional se origina por la no disyunción durante la meiosis II en la espermatogénesis.

Existe una gran controversia en cuanto a la importancia clínica del Síndrome XYY. Algunos autores han propuesto que en comparación con la población general, los hombres XYY tienen mayor incidencia de deterioro cognitivo, trastornos del espectro autista, comportamiento agresivo e infertilidad (25). En cuanto la infertilidad, un estudio reciente evaluó el recuento de espermatozoides en 47 hombres infértiles con cariotipo 47,XYY. El estudio concluyó que los resultados de los seminogramas variaron desde la normalidad hasta la azoospermia (38), tal y como ocurre en los hombres que no tienen esta fórmula cromosómica. Otros estudios proponen que el emparejamiento anormal causado por la presencia del cromosoma Y extra interfiere en la espermatogénesis resultando en una oligoastenospermia grave mientras que la pérdida pre-meiótica del cromosoma Y permitiría la espermatogénesis y la producción de esperma normal (39).

También se ha descrito que en los individuos que presentan este cariotipo los niveles de testosterona pueden ser normales o elevados, y que puede haber una FSH elevada (25). A pesar de lo descrito en la literatura, los resultados hormonales revisados en nuestro paciente revelaron unos niveles dentro del rango de referencia normal (**Tabla 7**). Por todos estos motivos, en nuestro paciente con XYY, este cariotipo no se puede considerar como el factor causal de la infertilidad, sino un hallazgo casual.

Otra causa genética hallada en pacientes con **azoospermia** fueron las **mutaciones en el gen *CFTR* de la fibrosis quística**, concretamente en un individuo se halló la mutación I507del en heterocigosis con el polimorfismo de riesgo añadido 5T(12) en trans. Es interesante comentar que el 12 (TG), es un segundo polimorfismo que aumenta todavía más el riesgo de CBAVD y esta es la razón por la que este individuo es azoospermico.

En las alteraciones en la reproducción de causa masculina debidas a azoospermia obstructiva o ausencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD) se han descrito comúnmente las mutaciones del gen *CFTR*.

La frecuencia de casos de infertilidad masculina debidos a mutaciones en el gen *CFTR* observada (2/60) se corresponde con lo descrito en la literatura, así como que una de las mutaciones encontradas sea la deltaF508 (esta última en el paciente con criptozoospermia) puesto que se trata de la más prevalente en pacientes con fibrosis quística (25). Algunos autores también incluyen entre las mutaciones comunes W1282X y N1303K (29), sin embargo estas mutaciones no fueron halladas en los individuos incluidos en el presente estudio.

Es importante recordar que hasta la fecha se han descrito más de 2000 mutaciones en el gen *CFTR* y sin embargo los análisis realizados en la práctica clínica analizan 50 de estas mutaciones. La explicación es que a pesar de que lo más preciso sería el análisis de todas las mutaciones descritas asociadas a infertilidad masculina, esto supondría un gran coste de recursos, por lo que se tiene que tener en cuenta la relación entre el coste y beneficio de los análisis realizados. Además, en muchas ocasiones se desconoce la implicación de determinadas mutaciones en las patologías, por lo que la presencia de una mutación puede no estar asociada causalmente con la infertilidad masculina.

También se han descrito variantes adicionales que aumentan el riesgo de CBAVD, como el polimorfismo 5T dentro del intrón 8 en el gen *CFTR* que se encontró en el 21% de los sujetos y que se encuentra específicamente asociada con la infertilidad masculina (29). En nuestro estudio, este polimorfismo se halló en los dos pacientes en el caso de la criptozoospermia sin el segundo polimorfismo añadido (el 12 TG).

Se han descrito niveles normales de **FSH**, **LH** y **testosterona** en pacientes con mutaciones en *CFTR* (4). En nuestra revisión, sólo encontramos los valores de FSH del individuo azoospermico que estaban dentro de los valores normales de referencia. Sin embargo, no se encontraron más análisis hormonales realizados en la Historia Clínica revisada.

Otra de las causas genéticas hallada en pacientes con **azoospermia** fueron las **microdeleciones en el cromosoma Y**. En los resultados del paciente se determinó la ausencia de los marcadores: sY157, sY254 e sY255, por lo que se concluyó que el paciente presentaba una delección en la región **AZFc**.

Las microdeleciones del cromosoma Y se asocian con azoospermia no obstructiva o oligozoospermia grave. En la literatura, se ha descrito que la prevalencia de la microdeleciones en el cromosoma Y en hombres azoospermicos oscila entre 10% -15% y en hombres oligozoospermicos de 5% -10% (32), por lo que los resultados obtenidos (2,63% sobre el total de los azoospermicos) difieren notablemente. Sin embargo, se mantiene que la mayor incidencia de microdeleciones observadas fue en individuos azoospermicos.

El locus AZF, también llamado factor de azoospermia se encuentra localizado en la región Yq11 y contiene los genes necesarios para la espermatogénesis normal (40). Se han estudiado ampliamente las deleciones en este locus así como su correlación con infertilidad masculina. Por lo que el estudio de las microdeleciones del cromosoma Y, es en la práctica clínica una herramienta de diagnóstico de la infertilidad masculina y el caso hallado en nuestra casuística lo demuestra.

La Red de Calidad de Genética Molecular (EMQN, por sus siglas en inglés) ha dedicado grandes esfuerzos en mejorar la calidad del diagnóstico molecular de las microdeleciones del cromosoma Y. En sus estudios, considera que los nuevos métodos y kits con un número excesivamente alto de marcadores no mejoran la sensibilidad de la prueba e incluso pueden complicar la interpretación de los resultados, por lo que no los considera recomendables para el diagnóstico (33). Esto es debido a que algunos de los kits disponibles comercialmente contienen marcadores genéticos específicos, que pueden no estar asociados causalmente con la infertilidad masculina, por lo que se debe tener mucho cuidado tanto en la validación de las presuntas deleciones como en la interpretación de los resultados. Sin embargo, las deleciones AZF son específicas para la falla espermatogénica ya que no se han descrito deleciones en individuos normozoospermicos. En este punto también es importante recordar que no se deben confundir los términos fertilidad y normozoospermia, puesto que es posible que individuos con alteraciones en el seminograma logren el embarazo, es decir, sean fértiles. El kit utilizado con los pacientes de esta revisión cumple los parámetros de calidad EMQN.

En cuanto a los análisis hormonales, se ha descrito que los varones con microdeleciones AZF pueden presentar fenotipos masculinos normales, pero sus niveles hormonales alterados y problemas de infertilidad. Un estudio realizado en cinco pacientes con microdeleciones AZF obtuvo en sus resultados niveles elevados de FSH y LH; niveles bajos de testosterona y valores normales para los niveles de Estradiol y Prolactina (41). En nuestros resultados se puede observar cómo el paciente azoospermico muestra valores elevados de prolactina y normales el resto de hormonas analizadas.

Respecto a los pacientes con **criptozoospermia**, 2 pacientes fueron diagnosticados de alguna causa genética conocida (40% de los criptozoospermicos y 3,33% del total). El primer paciente presentó una **mutacion en el gen CFTR de la fibrosis quística**: F508del (heterocigoto) con polimorfismo 5T/9T, mencionado anteriormente, y el segundo una **translocación robertsoniana** [45,XY,rob(13:14)(q10;q10)].

Finalmente, para el único paciente **teratozoospermico** (1,67% del total) se halló también una **translocación robertsoniana** entre los cromosomas 13 y 14: 45,XY,rob(13;14)(q10;q10).

Las TR ocurren cuando dos cromosomas acrocéntricos fusionan sus brazos largos. Son las anomalías estructurales más frecuentes (1/1000 en recién nacidos y 0.9% en los hombres infértiles) (25). En nuestra casuística el porcentaje ha sido netamente superior con un 3,34% (2/60). La segregación defectuosa de los cromosomas fusionados y las interferencias en el apareamiento llevan a una espermatogénesis alterada. Concretamente, se ha propuesto que la organización territorial de los bivalentes en los espermatoцитos humanos en metafase I cambia en presencia de una TR (42).

Estudios realizados confirman valores más altos de **LH** y **FSH** en hombres con alteraciones cromosómicas (30). Estos valores se corresponden con los de los valores revisados en nuestros resultados (**Tabla 7**) para el individuo criptozoospermico en cuanto al aumento en los niveles de FSH y LH. Sin embargo, no se encontraron análisis hormonales realizados en el individuo teratozoospermico en la Historia Clínica revisada.

Para el resto de individuos incluidos en el estudio (50 en total), no se hallaron causas genéticas conocidas. Esto supone que el **83,33%** de los individuos incluidos en el estudio no tuvieron un diagnóstico definitivo en cuanto a la causa de su infertilidad. Además, para el 100% de los casos de oligozoospermia severa, astenoteratozoospermia, oligo-asteno-teratozoospermia y asteno-teratozoospermia la **etiología fue desconocida**. Estos datos demuestran la necesidad de avanzar en la

investigación en cuanto a la comprensión actual de las causas, los mecanismos biológicos y las vías detrás de la espermatogénesis alterada y la fisiología reproductiva masculina.

En la literatura, el porcentaje de casos de infertilidad masculina considerados como idiopáticos tras el estudio clínico completo ronda el 30%-50% de los casos. Sin embargo, nuestros resultados muestran que este porcentaje está infravalorado y que el número de casos con etiología desconocida de infertilidad masculina es mucho mayor. Como ya se ha dicho al inicio de la discusión, esto es debido probablemente a que nuestro estudio se ha llevado a cabo solo a partir de la Consulta de Asesoramiento Genético, no a partir del total de individuos con infertilidad de factor seminal en nuestra población.

En cuanto a los **análisis hormonales**, debido a la complejidad que implica la integración de señales hormonales durante el proceso de la gametogénesis y de la reproducción, se han descrito resultados contradictorios. Sin ir más lejos, en la función testicular influyen: factores locales, hormonas, mecanismos paracrinós y autocrinos. También pueden influir moléculas que llegan al testículo y / o se producen localmente en la gónada (como por ejemplo péptidos, neurotransmisores, neurohormonas, citocinas y prostaglandinas) y regulan la actividad de diferentes tipos de células, como por ejemplo, las células de Leydig, las células de Sertoli, los mastocitos, los macrófagos y los miofibroblastos (17).

En definitiva, podría decirse que los análisis hormonales que se realizan habitualmente en la práctica clínica son los más recomendados en la literatura. Algunos autores han realizado guías orientativas en función de las alteraciones hormonales con el seminograma y la probabilidad estimada de recuperación espermática (21). En estas guías, en función de los resultados hormonales, los pronósticos de recuperación espermática varían desde probables a improbables en los individuos en función de su seminograma.

En individuos **azoospermicos**, el pronóstico más favorable es para aquellos que muestren niveles normales de FSH e inhibina-B, en cuyo caso se propone la posible recuperación espermática mediante punción. En aquellos casos en los que la FSH se encuentre aumentada y la inhibina-B disminuida la recuperación es más dudosa, aunque puede depender de los niveles de inhibina-B.

Para las **oligozoospermias** con niveles normales de FSH e inhibina-B, el beneficio con tratamientos de estimulación hormonales es dudoso, e improbable en los casos en los que los niveles de FSH se encuentren aumentados y los de inhibina-B reducidos. En

el único caso en el que se describe un posible beneficio es en aquellos individuos con un descenso en los niveles de FSH e inhibina.B.

En el caso de las **astenozoospermias** y/o **teratozoospermias**, no se ha podido demostrar la utilidad de las determinaciones hormonales.

Por este motivo, aunque los resultados hormonales permiten orientar pautas de diagnóstico y tratamiento durante la práctica clínica, en la actualidad no está indicada la realización sistemática de determinaciones hormonales como método de diagnóstico en los varones de parejas infértiles (3). Por esta razón, de los 60 individuos incluidos en el presente estudio, en pocos casos se hallaron estudios hormonales realizados. Pese a esto, lo más adecuado es considerar la valoración de los análisis hormonales junto con la historia clínica, la exploración clínica y los estudios seminales.

En definitiva, no hay duda de que, entre las causas genéticas más frecuentes de infertilidad masculina halladas en nuestra serie se encuentran las anomalías cromosómicas, las microdeleciones en el cromosoma Y, las mutaciones en el gen *CFTR* tal y como se ha descrito en la literatura.

Pero las causas de aproximadamente el 50% de los casos de infertilidad masculina siguen siendo inexplicables, siendo en el presente trabajo las causas no conocidas el 83,33%. Por este motivo es importante intentar desarrollar otras herramientas de diagnóstico confiables para identificar los mecanismos subyacentes de la infertilidad masculina.

Hasta la fecha, se han descrito más de 168 genes asociados significativamente con la infertilidad masculina (43), los más relevantes se muestran en la **Tabla 4**. Los genes descritos participan en el metabolismo, procesamiento de información genética (replicación, reparación y transcripción de ADN, degradación y traducción de ARN, plegamiento, clasificación y degradación de proteínas), procesamiento de información ambiental, procesos celulares y enfermedades humanas como cáncer, resistencia a fármacos, dependencia de sustancias, y enfermedades endocrinas, metabólicas, cardiovasculares, inmunes, infecciosas (bacterianas, virales y parasitarias) y degenerativas. Variaciones en estos genes pueden dar lugar a alteraciones que produzcan como resultado final la infertilidad masculina.

Muchos autores proponen como principales candidatos de la infertilidad masculina a los **genes presentes en los cromosomas sexuales** debido a su estado hemigigótico en los hombres. Se ha descrito que los genes *TEX11* y *RHOX* causan infertilidad masculina si están mutados. En esta línea, también se han descrito **genes**

autosómicos en los que mutaciones heterocigóticas son causantes de infertilidad, algunos ejemplos son los genes *NR5A1* y *DMRT1* (22).

Entre las mutaciones más estudiadas en la literatura en individuos con infertilidad masculina encontramos las mutaciones del **receptor de andrógenos (AR)** en el gen AR ligado al cromosoma X. Su implicación en la fertilidad masculina ha provocado gran controversia entre los autores que defienden su implicación en la infertilidad masculina (29) y los que sostienen que no contribuye a la infertilidad idiopática, sin otro fenotipo añadido (46). Este gen se ha descrito asociado a tres enfermedades diferentes: síndrome de insensibilidad a los andrógenos (AIS), atrofia muscular espinal y bulbar (SBMA o enfermedad de Kennedy) y cáncer de próstata (22).

Se han descrito dos polimorfismos en el exón 1 del gen AR: CAG y GGN, cuyo número de copias anómalo puede dar por ejemplo la SBMA. Entre hombres con infertilidad sin esas enfermedades, se han hecho estudios con controles y, a pesar de que el resultado de la diferencia en el número de copias sea estadísticamente significativo, estas diferencias entre hombres infértiles y controles son clínicamente irrelevante para la práctica clínica (22).

Además, cada vez son más los **polimorfismos** descritos asociados a infertilidad masculina, algunos ejemplos son: ZMYND10, CYP17A1, NRF2, GST, SOD, NOS, GPX, CAT, FSHB y FSHR (44). En la búsqueda realizada, numerosos artículos describen polimorfismos asociados a la infertilidad (22, 45, 46), lo cual quiere decir que se ha observado una asociación estadísticamente significativa para ellos. Un ejemplo serían los SNPs rs6721961 and rs35652124 en el gen *NRF2* que se han asociado con oligoastenozoospermia (44). Sin embargo, no se ha descrito una asociación casual, es decir, estos polimorfismos también se encuentran en la población con un seminograma normal, por lo que no son causas directas de la infertilidad.

También, otros estudios recientes han descrito numerosas **variantes de un único nucleótido (SNV)** en hombres infértiles en comparación con los controles (22), y se ha propuesto que la infertilidad puede estar asociada con una mayor inestabilidad general del genoma, pero nuevamente, estos estudios no parecen tener utilidad clínica.

Durante la revisión también se encontraron otros trastornos genéticos asociados a la infertilidad masculina, como sería el caso de la **discinesia ciliar primaria (PCD)**. Se trata de un trastorno autosómico recesivo que resulta de la pérdida de la función ciliar normal. Los síntomas incluyen dificultad respiratoria neonatal, sinusitis crónica, bronquiectasia, e infertilidad. Sin embargo, solo 15 genes asociados a PCD han sido identificados como causantes de infertilidad masculina hasta la fecha. Debido a la

heterogeneidad genética de la PCD, las pruebas genéticas moleculares integrales no se consideran un estándar de atención. La investigación adicional en este campo tendrá un impacto en la estrategia de diagnóstico para la infertilidad masculina, lo cual permite a clínicos proporcionar a los pacientes asesoramiento genético informado y ayudar a adoptar el mejor curso de tratamiento para el desarrollo directamente dirigida a la medicina personalizada (46).

Otros autores proponen los errores meióticos para explicar algunos casos. Concretamente, se han descrito mutaciones en los genes *SYCP3* y *SYCE1* del **complejo sinaptonémico (CS)**, el cual constituye el andamio proteico específico de la meiosis y es esencial para la progresión exitosa de la meiosis (47). Se ha propuesto que mutaciones en los genes que codifican los componentes SC pueden estar relacionados con la infertilidad humana. Los resultados obtenidos hasta la fecha sugieren que un bajo porcentaje de casos de infertilidad en humanos podría explicarse por estas mutaciones. Aun así, algunos autores sugieren que la caracterización de estas mutaciones podría permitir una comprensión más profunda de las bases moleculares subyacentes para algunos de los casos de infertilidad idiopática.

En los estudios revisados se ha observado que junto con el avance tecnológico aumenta la descripción de genes y variantes genéticas asociadas con la fertilidad en los hombres. Sin embargo, es difícil determinar el factor causal de las variantes y alteraciones genéticas descritas. La mayor dificultad reside en que muchas variantes se encuentran también en individuos fértiles y que la mayoría de los estudios no han sido replicados por el momento o que hasta la fecha no se ha descrito su papel en el desarrollo y la función gonadal humana. Otro problema recurrente en cuanto a la interpretación de las variantes detectadas es que algunas pueden comprender variantes no patógenas que están asociadas con grupos étnicos específicos.

Esto subraya la necesidad de en primer lugar, evaluar estrictamente *in silico* la patogenicidad, y en segundo lugar, realizar estudios funcionales para determinar la causalidad de las mutaciones en la infertilidad (22).

Finalmente, no podemos dejar de mencionar que existen otros factores que influyen en la fertilidad masculina, como la **epigenética** o la **regulación de la expresión génica** que puede llegar a influir, por ejemplo, en los niveles de proteínas plasmáticas de los espermatozoides (48). Algunos autores sugieren que existe una estrecha relación entre la epigenética y la infertilidad masculina idiopática (5). Esto es así porque se sabe que la epigenética influye sobre todo en los trastornos complejos, como es el caso de la

infertilidad, con múltiples factores genéticos y ambientales. En esta línea no se deben olvidar otros factores como la edad, el ejercicio, la obesidad, psicológicos (9, 23).

En conclusión, tanto nuestros resultados como la literatura consultada demuestran que nuestra comprensión actual de las causas, los mecanismos biológicos y vías detrás de la espermatogénesis alterada y la fisiología reproductiva masculina y por lo tanto la infertilidad masculina son limitados en la actualidad. Por ese motivo también lo son las herramientas de diagnóstico empleadas en la práctica clínica. Todo ello influye en el bajo porcentaje (16,67% de anomalías genéticas halladas en el presente estudio).

Aun así, los estudios de las anomalías cromosómicas, microdeleciones en el cromosoma Y, y las mutaciones en el gen *CFTR* llevados a cabo en la práctica clínica, permiten diagnosticar un elevado número de casos de infertilidad masculina. Los hallazgos demuestran que los protocolos genéticos asistenciales realizados en la actualidad son válidos y absolutamente necesarios para el diagnóstico genético de la infertilidad masculina por factor seminal.

Estos protocolos no solo aportan un diagnóstico, sino que además en muchas ocasiones permiten el asesoramiento genético para la evaluación del riesgo de transmisión de la alteración conocida a la descendencia.

7. CONCLUSIÓN

Los hallazgos demuestran que los protocolos genéticos asistenciales realizados en la actualidad (cariotipo, microdeleciones del Y, y gen *CFTR*) son válidos y absolutamente necesarios para el diagnóstico genético de la infertilidad masculina por factor seminal, aunque quizás debiera replantearse algún otro estudio en casos concretos.

8. LIMITACIONES

La mayor limitación del presente estudio es que al tratarse de un estudio retrospectivo basado en revisiones de historias clínicas, muchos datos no se pudieron obtener por no constar en Osabide Global.

Es importante destacar que, los pacientes que llegan a la consulta de Asesoramiento Genético derivan de la URH de los ginecólogos, no de los urólogos. Por este motivo, ya no llegan a la consulta todos los hombres infértiles por factor seminal, sino sólo aquellos que no se conoce la causa. Los factores adquiridos como los traumas, las infecciones o los factores exógenos puede ser que los vean los urólogos.

En otras ocasiones, los varones azoospermicos no acuden a los estudios genéticos puesto que no encuentran utilidad en la realización de pruebas diagnósticas genéticas que no les aportaría una solución a su infertilidad (un ejemplo sería cuando la pareja ha aceptado un donante de semen). Por este motivo, en ocasiones se puede subestimar el porcentaje de estos pacientes, no porque no los haya sino porque cuando conocen sus resultados abandonan los estudios genéticos.

Por último, es importante recordar que la gran variación biológica que existe en los parámetros seminales, obliga a que para una evaluación inicial de la función testicular sean necesarias **dos muestras** de semen que difieran entre 1 y 3 meses. Sin embargo, en la práctica clínica actual muchas veces se realiza un solo análisis para dar el resultado del seminograma al paciente, seminograma en el que se basa la URH para enviar los casos a la Consulta de Genética.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

Sería interesante realizar un estudio genético de casos-controles para comparar las variantes y la expresión de los genes que se han descrito en la literatura (Tabla 4) en nuestros pacientes. Además, también podría analizarse RNA no codificante y modificaciones epigenéticas para observar los efectos en la expresión de los genes. Hasta la fecha las variantes genéticas tienen una relevancia clínica limitada, por este motivo es necesario realizar estudios en poblaciones mucho más grandes, así como estudios funcionales para identificar variantes genéticas patogénicas informativas.

Se podría realizar una guía práctica que recoja las recomendaciones para el estudio genético en la evaluación de los trastornos de la infertilidad masculina por factor seminal.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Kim SY, Kim HJ, Lee BY, Park SY, Lee HS, Seo JT. Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men with Non-obstructive Azoospermia and Severe Oligozoospermia. *J Reprod Infertil*. 2017;18(3):307-15.
2. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod*. 2017;32(9):1786-801.
3. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *Eur Urol*. 2012;62(2):324-32.
4. Alonso-Cerezoa MC, Calero Ruiz M, Chantada-Abal V, de la Fuente-Hernández LA, García-Cobaleda I, García-Ochoa C, et al. Recomendaciones para el estudio genético e inmunológico en la disfunción reproductiva. *Med Clin (Barc)*. 2017.
5. Gunes S, Arslan MA, Hekim GNT, Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(5):553-69.
6. Krausz C. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(2):271-85.
7. Punab M, Poolamets O, Paju P, Vihlajev V, Pomm K, Ladva R, et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Hum Reprod*. 2017;32(1):18-31.
8. Qian L, Li Q, Li H. Effect of hepatitis B virus infection on sperm quality and oxidative stress state of the semen of infertile males. *Am J Reprod Immunol*. 2016;76(3):183-5.
9. Lyu Z, Feng X, Li N, Zhao W, Wei L, Chen Y, et al. Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):714.
10. Martinez F. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives. *Fertil Steril*. 2017;108(3):407-15.e11.
11. Esteves SC. Novel concepts in male factor infertility: clinical and laboratory perspectives. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(10):1319-35.
12. Organization. WH. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. FIFTH EDITION. ed2010.
13. De Braekeleer M, Nguyen MH, Morel F, Perrin A. Genetic aspects of monomorphic teratozoospermia: a review. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(4):615-23.

14. Yatsenko AN, Yatsenko SA, Weedon JW, Lawrence AE, Patel A, Peacock S, et al. Comprehensive 5-year study of cytogenetic aberrations in 668 infertile men. *J Urol*. 2010;183(4):1636-42.
15. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;59:10-26.
16. Tecle E, Gagneux P. Sugar-coated sperm: Unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. *Mol Reprod Dev*. 2015;82(9):635-50.
17. Rudolph LM, Bentley GE, Calandra RS, Paredes AH, Tesone M, Wu TJ, et al. Peripheral and Central Mechanisms Involved in the Hormonal Control of Male and Female Reproduction. *J Neuroendocrinol*. 2016;28(7).
18. Nikoobakht MR, Aloosh M, Nikoobakht N, Mehri AR, Biniyaz F, Karjalainen MA. The role of hypothyroidism in male infertility and erectile dysfunction. *Urol J*. 2012;9(1):405-9.
19. Donato J, Frazão R. Interactions between prolactin and kisspeptin to control reproduction. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60(6):587-95.
20. Kelsey TW, McConville L, Edgar AB, Ungurianu AI, Mitchell RT, Anderson RA, et al. Follicle Stimulating Hormone is an accurate predictor of azoospermia in childhood cancer survivors. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181377.
21. Manual de andrología. EdikaMed SL, editor 2011.
22. Röpke A, Tüttelmann F. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Aberrations of the X chromosome as cause of male infertility. *Eur J Endocrinol*. 2017;177(5):R249-R59.
23. Armanet N, Tosca L, Brisset S, Liehr T, Tachdjian G. Small Supernumerary Marker Chromosomes in Human Infertility. *Cytogenet Genome Res*. 2015;146(2):100-8.
24. Mateos J, Sanjuán S, González M, Rodríguez R, Domínguez C. Prevalencia de cariotipos patológicos en varones infértiles extremeños. *Revista Internacional de Andrología*. 2011;9(3):95-102.
25. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Genetics of Male Infertility. *Curr Urol Rep*. 2016;17(10):70.
26. Kanakis GA, Nieschlag E. Klinefelter syndrome: more than hypogonadism. *Metabolism*. 2018.
27. Bonomi M, Rochira V, Pasquali D, Balercia G, Jannini EA, Ferlin A, et al. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(2):123-34.
28. Aittomäki K, Wennerholm UB, Bergh C, Selbing A, Hazekamp J, Nygren KG. Safety issues in assisted reproduction technology: should ICSI patients have genetic

testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod.* 2004;19(3):472-6.

29. Tahmasbpour E, Balasubramanian D, Agarwal A. A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(9):1115-37.

30. Ventimiglia E, Capogrosso P, Boeri L, Pederzoli F, Cazzaniga W, Scano R, et al. When to Perform Karyotype Analysis in Infertile Men? Validation of the European Association of Urology Guidelines with the Proposal of a New Predictive Model. *Eur Urol.* 2016;70(6):920-3.

31. Krausz C, Chianese C, Giachini C, Guarducci E, Laface I, Forti G. The Y chromosome-linked copy number variations and male fertility. *J Endocrinol Invest.* 2011;34(5):376-82.

32. Halder A, Kumar P, Jain M, Kalsi AK. Genomics: Tool to predict and prevent male infertility. *Front Biosci (Schol Ed).* 2017;9:448-508.

33. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F, Andrology EAo, Network EMGQ. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2(1):5-19.

34. de Souza DAS, Faucz FR, Pereira-Ferrari L, Sotomaior VS, Raskin S. Congenital bilateral absence of the vas deferens as an atypical form of cystic fibrosis: reproductive implications and genetic counseling. *Andrology.* 2018;6(1):127-35.

35. Dohle G.R, Diemer T, Giwercman A, Jungwirth A, Kopa Z, C. K. Guía clínica sobre la infertilidad masculina. © European Association of Urology 2010.2010.

36. Davis SM, Rogol AD, Ross JL. Testis Development and Fertility Potential in Boys with Klinefelter Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015;44(4):843-65.

37. Lee HS, Park CW, Lee JS, Seo JT. Hypogonadism Makes Dyslipidemia in Klinefelter's Syndrome. *J Korean Med Sci.* 2017;32(11):1848-51.

38. Borjian Boroujeni P, Sabbaghian M, Vosough Dizaji A, Zarei Moradi S, Almadani N, Mohammadpour Lashkari F, et al. Clinical aspects of infertile 47,XXX patients: a retrospective study. *Hum Fertil (Camb).* 2017:1-6.

39. Abdel-Razic MM, Abdel-Hamid IA, ElSobky ES. Nonmosaic 47,XXX syndrome presenting with male infertility: case series. *Andrologia.* 2012;44(3):200-4.

40. Hotelling J, Carrell DT. Clinical genetic testing for male factor infertility: current applications and future directions. *Andrology.* 2014;2(3):339-50.

41. Wu QY, Li N, Li WW, Li TF, Zhang C, Cui YX, et al. Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with SRY-positive. *BMC Urol.* 2014;14:70.

42. Solé M, Blanco J, Valero O, Vergés L, Vidal F, Sarrate Z. Altered bivalent positioning in metaphase I human spermatocytes from Robertsonian translocation carriers. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34(1):131-8.
43. Tarín JJ, García-Pérez MA, Hamatani T, Cano A. Infertility etiologies are genetically and clinically linked with other diseases in single meta-diseases. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:31.
44. Yu B, Huang Z. Variations in Antioxidant Genes and Male Infertility. *Biomed Res Int.* 2015;2015:513196.
45. Majzoub A, Arafa M, Starks C, Elbardisi H, Al Said S, Sabanegh E. 46 XX karyotype during male fertility evaluation; case series and literature review. *Asian J Androl.* 2017;19(2):168-72.
46. Ji ZY, Sha YW, Ding L, Li P. Genetic factors contributing to human primary ciliary dyskinesia and male infertility. *Asian J Androl.* 2017;19(5):515-20.
47. Geisinger A, Benavente R. Mutations in Genes Coding for Synaptonemal Complex Proteins and Their Impact on Human Fertility. *Cytogenet Genome Res.* 2016;150(2):77-85.
48. Bieniek JM, Kashanian JA, Deibert CM, Grober ED, Lo KC, Brannigan RE, et al. Influence of increasing body mass index on semen and reproductive hormonal parameters in a multi-institutional cohort of subfertile men. *Fertil Steril.* 2016;106(5):1070-5.
49. Vaamonde D, Garcia-Manso JM, Hackney AC. Impact of physical activity and exercise on male reproductive potential: a new assessment questionnaire. *Rev Andal Med Deport.* 2017;10(2):79-93.
50. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Buck Louis GM, Toppari J, Andersson AM, Eisenberg ML, et al. Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiol Rev.* 2016;96(1):55-97.